Studien über Protoplasmapermeabilität.

Über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle und ihre Hemmung durch Elektrolyte

von

Josef Szücs.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der k. k. Universität (zweite Folge Nr. 6) und aus der biologischen Versuchsanstalt in Wien (botanische und physikalisch-chemische Abteilung).

(Mit 4 Textfiguren.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 7. Juli 1910.

I.

»In den Ionen besitzen wir die wirksamsten Agenzien in den Lebenserscheinungen.«

J. Loeb.

Die Stoffe können ihre direkte Wirkung auf das Plasma ausüben, wenn sie die Hautschicht der Zelle passiert haben, ihre indirekte Wirkung wieder nur dann, wenn sie durch Vermittlung der Hautschicht zur Geltung kommen. Es ist also für die gesamte Physiologie die Kenntnis der chemischen Beschaffenheit der Plasmahaut von großem Interesse.

Bei der Lösung dieser Aufgabe können wir nur indirekte Wege einschlagen, weil die Substanzmenge der Hautschicht so minimal ist, daß sie sich einer direkten Analyse entzieht. Pfeffer[1] (1877) folgert zwar aus mikrochemischen Reaktionen, daß die Plasmahaut eiweißartigen Charakter besitzt. Es bleibt dabei aber immer fraglich, ob die mikrochemische Reaktion

[1] Pfeffer, Osmotische Untersuchungen, 1877, p. 141; ferner Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. II, p. 342; Pfeffer, Plasmahaut und Vacuolen, Abh. d. k. sächsischen Ges. d. Wiss., Bd. 16 (1891), p. 187.

nur von der Hautschicht oder von den ihr anhaftenden Partikeln herrührt.

Quincke[1] (1888) schließt aus der Form der Zelle und aus den physikalischen Eigenschaften dünner Lamellen auf den chemischen Charakter der Plasmahaut. Er sagt: »Die Substanz dieser Membran (Hautschicht des Plasmas) ist eine Flüssigkeit, welche im Wasser Tropfen bildet oder mit Wasser nicht in jedem Verhältnis mischbar ist. Da von allen bekannten Stoffen der organischen Natur nur die Öle diese Eigentümlichkeit zeigen, so muß der Plasmaschlauch aus fettem Öl oder flüssigem Fett bestehen.« Da aber nicht die Hautschicht die Tropfenform der Zelle bestimmt, vielmehr die Plasmahaut die Form des Plasmas annimmt, so fällt mit der Prämisse auch der Schluß. Die Tropfenform der Zelle resultiert aus dem flüssigen Zustand des Plasmas und aus der elastischen Natur der Hautschicht. Zahlreiche Beobachtungen[2] an Grenzschichten von Emulsionskolloiden haben die Bildung von festen Häutchen an denselben erwiesen. Das scheinen auch Gaidukov's[3] ultramikroskopische Beobachtungen an der Grenzschicht vom Protoplasma zu bestätigen.

Overton[4] bestimmte teilweise durch direkte Beobachtung, teilweise mit der plasmolytischen Methode die Permeabilität der Hautschicht; aus der Permeabilität schloß er auf die Löslichkeitsverhältnisse und aus denselben auf den chemischen Charakter der Plasmahaut. So kam er zum Ergebnis, daß sie aus Lipoiden: einem Lezithin-Cholesteringemisch besteht. Die von Overton zu lösende Aufgabe war eine so schwierige, daß sie nicht erschöpfend gelöst werden konnte. Es scheint zwar

---

[1] Quincke, Wied. Ann. d. Phys. u. Chem., Bd. 35 (1888), p. 580.

[2] Metcalf, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 52 (1905), p. 1; Rohde, Drud. Ann., Bd. 19 (1906), p. 938: C. Nagel, Ann. d. Phys., Bd. 29 (1909), p. 1029.

[3] Gaidukov, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung in der Biologie und Medizin, Jena (1910); derselbe, Koll.-Zeitschr., Bd. 6 (1910), p. 260.

[4] Overton, Vierteljahrschrift d. naturf. Ges. in Zürich, Bd. 40 (1895), p. 159; derselbe, Bd. 41 (1896), p. 383 (Festschrift); derselbe, Bd. 44 (1899), p. 88; derselbe, Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 22 (1897), p. 189; derselbe, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 34 (1900), p. 669 ; derselbe, Studien über die Narkose, Jena (1901).

ein Parallelismus zwischen Lipoidlöslichkeit und diosmotischer Aufnahme zu bestehen, aber es ist nicht zu leugnen, daß nach den Untersuchungen von Ruhland[1] auch ein Gegensatz zwischen Lipoidlöslichkeit und der Aufnahme mancher Stoffe vorhanden ist.

Der so häufig gemachte Vorwurf, daß die Overton'sche Theorie die Aufnahme der ernährungsphysiologisch wichtigen Stoffe nicht erklärt, ist unberechtigt, weil Overton mit seiner Theorie nur die Aufnahme der durch Diosmose in die Zelle gelangten Stoffe erklären wollte, für die anderen Stoffe nahm er ein aktives Eingreifen der Zelle, eine sogenannte »adenoide Tätigkeit« an. Höber[2] bezeichnet die adenoide Tätigkeit der Zellen mit einem gutgemeinten, aber unglücklich gewählten Worte als »physiologisch«, gegenüber der »physikalischen«, d. h. der durch Diosmose erfolgenden Aufnahme. Diese Ausdrücke »adenoide Tätigkeit«, »physiologische Permeabilität« scheinen uns im ersten Augenblicke bloße Worte zu sein, die keinen Begriff davon geben, wie alle diejenigen Stoffe, die der Overton'schen Theorie nicht gehorchen, in die Zelle gelangen können. Eine eingehendere Betrachtung hingegen lehrt, daß diese Annahmen in gewissen Tatsachen begründet sind. Ein direkter Beweis dafür, daß ein Stoff auf einem anderen Wege als auf dem diosmotischen (beziehungsweise durch die Löslichkeit in der Hautschicht) in die Zelle gelangt (abgesehen von den Myxomyceten, Amöben etc.), wurde meines Wissens noch nicht erbracht. Es sind zwar viele Tatsachen bekannt, die man durch ein »aktives Eingreifen« der Zelle erklärt hat, aber das spricht noch nicht dafür, daß ein solches Eingreifen tatsächlich vorhanden wäre. Wenn aber auch kein experimenteller Beweis dafür erbracht wurde, kann man die Frage doch bejahend beantworten, und zwar darum, weil außer den Löslichkeitsverhältnissen auch andere mitbestimmende Momente die Permeabilität, beziehungsweise Impermeabilität einer Membran

[1] Ruhland, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 46 (1908), p. 1; derselbe, Ber. d. deutschen bot. Ges., Bd. 26 (1908), p. 772; derselbe, Zeitschr. f. Botanik, Bd. 1 (1909).

[2] Höber, Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe, Leipzig, 2. Aufl. (1906), p. 178; derselbe, Biochem. Zeitschr., Bd. 20 (1909), p. 56.

bedingen, und zwar sind das Adsorption und chemische Reaktionen, die zwischen der Membran und dem passierenden Stoff stattfinden. Wenn es aber zutrifft, daß auch andere Momente als die Löslichkeit, beziehungsweise Unlöslichkeit in der Hautschicht die Permeabilität, beziehungsweise Impermeabilität bestimmen, so kann man nicht aus der Permeabilität auf die Löslichkeit und aus der Impermeabilität auf die Unlöslichkeit in der Hautschicht Rückschlüsse ziehen. Nach Höber soll darüber, ob eine »physikalische« oder »physiologische« Permeabilität vorliegt, in manchen Fällen die plasmolytische Methode Aufschluß geben. Das mag vielleicht zutreffen, aber Overton[1] benützte zur Aufstellung seiner Theorie die Permeabilität einer großen Zahl solcher Stoffe, die nicht nach der plasmolytischen Methode auf ihre Permeabilität geprüft wurden.

Nach der Overton'schen Theorie sind noch zwei Permeabilitätstheorien aufgestellt worden.

Die anschauliche, aber keinesfalls zutreffende Theorie von A. Nathanson[2] ist eine Ergänzungshypothese der Overton'schen. Hier will ich mich damit nicht näher beschäftigen, weil sie kurze Zeit nach ihrer Entstehung von Ruhland widerlegt wurde.

Die von J. Traube[3] aufgestellte Theorie schreibt der Oberflächenspannung eine entscheidende Rolle bei dem Vorgang der Diosmose zu; sie gibt also keinen Aufschluß über die chemische Beschaffenheit der Plasmahaut. Dadurch, daß Traube seine Theorie auch auf solche Erscheinungen ausdehnen wollte, bei denen die Oberflächenspannung sicher nicht maßgebend ist, brachte er seine ganze Theorie in unverdienten Mißkredit. Es ist sicher, daß der Oberflächenspannung bei der

---

[1] Overton, Z. f. phys. Chem., Bd. 22 (1897), p. 189, ferner Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 34 (1900), p. 669.

[2] A. Nathanson, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 38, p. 241; Bd. 39, p. 607. Einwände bei Ruhland l. c., ferner methodische Einwände bei Jost, Bot. Zeit., Bd. 62 (1904), p. 128.

[3] J. Traube, Pflüg. Arch., Bd. 105, p. 541, 559 (1904). Einwände gegen die Anwendung der Traube'schen Theorie in manchen Fällen. Török, Zentr. für Physiol., Bd. 20 (1906), p. 206.

Diosmose eine größere Rolle zukommt, als man es im allgemeinen heute annimmt. Mit der ablehnenden Haltung gegen die Traube'sche Theorie strich man die Oberflächenspannung unberechtigt aus der Reihe der mitentscheidenden Momente, so daß in den neuesten Arbeiten über Protoplasmapermeabilität die Oberflächenspannung überhaupt nicht oder nur nebenbei berücksichtigt wird.

II. Über die Aufnahme basischer Anilinfarben durch die lebende Zelle und das Grundgesetz der Diffusion von Fick.

Im folgenden Abschnitte soll gezeigt werden, daß die Aufnahme von bestimmten Farbstoffen durch die lebende Zelle nach dem Fick'schen Grundgesetz der Diffusion erfolgt.

Ein Zusammenhang zwischen physiologischer Wirkung und Diffusion [1] wurde oft vermutet und auch vielleicht gezeigt, so z. B. bei der Resorptionsgeschwindigkeit, bei der Giftwirkung usw. Die angestellten Versuche verglichen meistens die Resorbierbarkeit, beziehungsweise die Giftwirkung von verschiedenen Stoffen mit verschiedenen Diffusionskoeffizienten. Wenn sie auch denselben Stoff mit demselben Diffusionskoeffizienten (nur bei verdünnten Lösungen ist der Diffusionskoeffizient konstant) bei verschiedenen Konzentrationen untersuchten, kamen sie nicht zu genau definierbaren Gesetzmäßigkeiten, was auch sehr leicht verständlich ist, weil viele störende Faktoren die Diffusion in nicht kontrollierbarer Weise beeinflussen. Der relativ einfachste Fall der Diffusion ist die Aufnahme gewisser Farbstoffe durch die bestimmten lebenden Zellen.

Meines Wissens wurden bisher noch keine exakten quantitativen Versuche über die Aufnahmsgeschwindigkeit der Farbstofflösungen angestellt. In den Arbeiten von Pfeffer, [2]

---

[1] Siehe diesbezüglich die Hand- und Lehrbücher von Korányi und Richter, Physikalische Chemie und Medizin, 2 Bände, Leipzig 1907 bis 1908; ferner Cohen, Vorträge für Ärzte über physikalische Chemie, II. Aufl. (1906); Höber, Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe, II. Aufl., Leipzig (1906).

[2] Pfeffer, Unters. an dem bot. Institut zu Tübingen, Bd. 2 (1886), p. 315.

Heidenhain,[1] Overton,[2] Höber,[3] Ruhland,[4] Robertson[5] finden sich keine genaueren Zeitangaben; die genannten Autoren begnügen sich mit allgemeinen Angaben, wie »Tage«, »Stunden«, »einige Minuten«.

Die durch die lebende Zelle aufgenommene Menge eines und desselben Farbstoffes ist der Konzentration und der Diffusionsdauer proportional:

$$S = k.c.t,$$

wo S die in die Zelle diffundierte Menge des Farbstoffes, c die Konzentration desselben im Außenmedium und t die Zeit bedeutet, die zur Aufnahme der Menge S bei der Konzentration c nötig ist. Dabei ist das Vorhandensein einer einheitlichen Molekülgattung (keine Ionisation und Polymerisation) in der Lösung vorausgesetzt.

Zu den meisten Versuchen benützte ich verschiedene *Spirogyra*-Arten. Die bei einer Versuchsreihe — deren Resultate miteinander verglichen wurden — verwendeten Fäden waren von derselben Art und demselben Fundort. Dieser Umstand war bei meinen Versuchen von großer Bedeutung, weil, wie ich mich öfters überzeugen konnte, verschiedene Individuen, wenn sie auch von derselben *Spirogyra*-Art waren, doch ein qualitativ verschiedenes Verhalten gegen den Farbstoff zeigten, je nach ihrer verschiedenen Vorgeschichte. Ich konnte die individuellen Schwankungen der Zellen nicht ausschalten, aber dadurch, daß ich zu meinen Versuchen Zellen von demselben Fundorte benützt habe, die ich noch vor dem Versuch unter möglichst gleiche Außenbedingungen setzte, ist es mir gelungen, die aus diesem Umstande herrührenden Fehler auf ein Minimum zu reduzieren.

Die so präparierten Fäden wurden unmittelbar vor dem Versuch in destilliertem Wasser sorgfältig ausgewaschen und

---

[1] Heidenhain, Pflüg. Arch., Bd. 9 (1874), p. 1.

[2] Overton, Jahrb. für wiss. Bot., Bd. 34 (1900), p. 669.

[3] Höber, Biochem. Zeitschr., Bd. 20 (1909), p. 56; ders. u. Chassin, Koll.-Zeitschr., Bd. 3 (1908), p. 76.

[4] Ruhland, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 46 (1908), p. 1.

[5] Robertson, Journ. of Biolog. Chem., Vol. IV (1908), Nr. 1.

je nach der Empfindlichkeit der betreffenden Art 5 Minuten bis 1 Stunde darin belassen. Der Zweck dieses Auswaschens war, die an den Fäden haftenden Verunreinigungen, und zwar hauptsächlich Elektrolyte, möglichst zu entfernen. Die Entfernung von Elektrolyten ist darum so wichtig, weil, wie wir weiter unten sehen werden, die Elektrolyte einen gewaltigen Einfluß auf die Aufnahmsgeschwindigkeit von Farbstofflösungen haben. Die ausgewaschenen Fäden wurden mittels eines am Ende gebogenen Platindrahtes in die betreffende Farbstofflösung gelegt. Während des Versuches wurde die Farbstofflösung ständig in Bewegung gehalten. Nach einer bestimmten Zeit wurden die Fäden mittels des Platindrahtes aus der Farbstofflösung herausgehoben und in eine hyper-, bei manchen Versuchen in eine hypotonische $Ca(NO_3)_2$-Lösung übertragen. Nach den Versuchen von Pfeffer[1] ist bekannt, daß man den in der Zellulosemembran gespeicherten Farbstoff durch Elektrolytzusatz entfernen kann, und aus beschriebenen Versuchen ist zu ersehen, daß man auch die Farbstoffaufnahme durch die Zelle bei Zusatz von bestimmten Elektrolyten verhindern kann. Bei meinen Versuchen hatte die Übertragung der Fäden in eine $Ca(NO_3)_2$-Lösung den Zweck, jede weitere Farbstoffdiffusion in die Zelle nach Heraushebung derselben aus der Farbstofflösung zu verhindern; wenn man dies unterläßt, so bleibt in der Zellulosemembran noch eine bestimmte Menge von Farbstoff, die nach dem Herausheben des Fadens aus der Farbstofflösung noch weiter eine unbestimmte Zeit hindurch in die Zelle diffundiert. Mit dieser Methode kann man den Diffusionsprozeß nach beliebiger Versuchszeit praktisch momentan abbrechen.

Die Versuchszeit wurde mittels einer Stoppuhr gemessen.

Die meisten Versuche habe ich mit Methylviolett *B* (Grübler'sches Präparat), ein Gemisch der salzsauren Salze von Hexamethylpararosanilin, Pentamethyl- und Tetramethylrosanilin ausgeführt.[2]

---

[1] Pfeffer, Unters. aus dem bot. Institut zu Tübingen, Bd. II, 1886, p. 179.

[2] R. Nietzki, Chemie der organischen Farbstoffe, Berlin 1901, IV. Aufl.

Die Giftigkeit[1] des Methylvioletts kam bei meinen Versuchen wegen der kleinen Versuchsdauer nicht zur Geltung; außerdem wurde der Versuch, lange bevor die Grenze der maximalen Färbbarkeit des Plasmas erreicht war, abgebrochen.

Die Vorteile, die das Methylviolett bei solchen Versuchen gegenüber vielen anderen Farbstoffen besitzt, sind: das Fehlen einer sichtbaren Speicherung in der Zellulosemembran gewisser Zellen bei verhältnismäßig konzentrierten Lösungen. Wie wir sehen werden, spielt das eine große Rolle bei unseren Versuchen, da nämlich die Speicherung eine Adsorption des Farbstoffes durch die Zellulosemembran ist, deren Geschwindigkeit bei einer verhältnismäßig dicken Zellulosemembran in einem anderen Zusammenhang mit der Konzentration des adsorbierten Stoffes (in diesem Falle Methylviolett) steht, wie die Diffusionsgeschwindigkeit mit der Konzentration der diffundierenden Substanzen. Deshalb kompliziert das Vorhandensein einer Adsorption den einfachen Verlauf der Diffusion.

Weitere Details über die Einzelheiten der Versuchsanordnung finden sich bei den einzelnen Versuchen. Die erste Versuchsreihe betraf die Abhängigkeit der Aufnahmsgeschwindigkeit von der Konzentration des Farbstoffes.

Versuchsobjekt: *Spirogyra* (Kultur *A*).[2]

Diffundierende Flüssigkeit: Methylviolett.

Temperatur: 18 bis 20° C. (Da der osmotische Druck auch bei den kolloidalen Farbstofflösungen parallel mit der absoluten Temperatur ansteigt [Bayliss],[3] sind die aus Temperaturschwankungen von 2° C. resultierenden Fehler ganz zu vernachlässigen, denn bei unseren Versuchen wurde der osmotische Druck durch Veränderung der Konzentration des Farbstoffes mindestens auf das Doppelte gesteigert.

---

[1] Pfeffer, l. c.

[2] Die Resultate der Versuche, die mit aus einer Kultur stammenden Spirogyren gewonnen wurden, sind miteinander vergleichbar, die anderen nicht, darum habe ich neben der *Spirogyra* die Bezeichnung der Kultur angegeben.

[3] Bayliss, Proc. of the Royal Soc. Bd. 81 (1909), p. 269; derselbe, Koll.-Zeitschr., Bd. 6 (1910), p. 23.

Vor dem Versuche wurden die Fäden mit destilliertem Wasser öfters abgespült und 15 Minuten daringelassen. Im Momente, als der Versuch abgebrochen wurde, gab ich die Fäden in eine hypertonische $Ca(NO_3)_2$-Lösung, die bei den Versuchen, deren Resultate miteinander verglichen wurden, immer von derselben Konzentration war. Wenn man das unterläßt, so sind die gewonnenen Resultate miteinander nicht vergleichbar, weil bei stärkerer Konzentration der plasmolysierenden Flüssigkeit sich das Plasma besser kontrahiert, also der Farbstoff innerhalb der Zelle konzentrierter wird wie bei einer solchen Zelle, die nur mit einer verdünnteren Lösung plasmolysiert wurde.

Es wurde die Zeit beobachtet, die nötig war, damit der Farbstoff die Zellen mit einer bestimmten gleichen Intensität färbte. Die gleiche Färbungsintensität wurde durch die Vergleichung der Fäden in mit bestimmter Intensität gefärbten Zellen beurteilt. Die Färbungsintensität war eine willkürlich gewählte, die zeitlich unmittelbar vor dem Auftreten des körnigen Niederschlages im Plasma lag. Da gleich starke Färbung bei jeder Zelle nicht in derselben Zeit eintrat, habe ich bei meinen Versuchen die aus den unvermeidlichen individuellen Schwankungen stammenden Verschiedenheiten in den Beobachtungszeiten in der Weise veranschaulicht, daß ich die angegebenen Versuchsdaten in vier Kolonnen geteilt habe. In der Kolonne I ist die Zeit angegeben, bei welcher bei gegebener Konzentration noch keine einzige Zelle gefärbt war, in Kolonne II, wo einzelne Zellen schon gefärbt waren, in Kolonne III waren schon mehr als die Hälfte der Zellen und in Kolonne IV schon alle gefärbt. Es ist vorgekommen, daß vereinzelte Zellen sich viel später gefärbt haben wie alle anderen, und die hätten die Versuchsdaten stark herausgeschoben und große Beobachtungsfehler verursacht, darum habe ich diese Zellen außer acht gelassen. Mein Hauptaugenmerk habe ich auf Kolonne IV gerichtet. Es wurde zunächst durch einen vorläufigen Versuch annähernd die Zeit ermittelt, in der sich fast alle Zellen färbten. Dann wurden in der Nähe dieses Zeitpunktes mehrere andere Versuche angestellt, um genauer zu ermitteln, wann die gesuchte Färbung eingetreten war.

Tabelle I (Fig. 1, Kurve I).

Konzentration des Methylvioletts in Proz. (c)	I	II	III	IV			Mittelwert t	$c.t$
0·000125	—	$2^m\ 30^s$	$5^m\ 0^s$	$7^m\ 0^s$	$5^m\ 30^s$	$5^m\ 45^s$	$6^m\ 5^s$	0·000760
0·000250	$0^m\ 30^s$	1 30	2 15	2 30	3 0	—	2 45	0·000687
0·000375	—	0 45	1 30	2 0	2 15	2 0	2 5	0·000780
0·000500	—	0 30	0 50	1 15	1 30	—	1 22	0·000680
0·000750	0 08	0 20	0 30	0 40	0 50	0 45	0 45	0·000562
0·00125	—	0 15	0 25	0 35	0 40	0 40	0 38	0·000787

Wie wir sehen, besteht ein einfacher Zusammenhang zwischen der Konzentration des Farbstoffes und der Aufnahmsgeschwindigkeit. Die Aufnahmsgeschwindigkeit ist proportional der Konzentration, d. h. je größer die Konzentration ist, desto kleiner ist die Zeit, die dazu hinreicht, daß die Zellen sich mit gleicher Intensität färben. Das ist aber nichts anderes als die Folge des Elementargesetzes der Diffusion von Fick,[1]

$$S = kqt\frac{dc}{dx},$$

das aussagt, daß S, die diffundierte Menge, proportional ist einem Faktor, dem sogenannten Diffusionskoeffizienten k, der bei demselben Stoff im unveränderten Molekularzustande derselbe ist (nur bei verdünnten Lösungen),[2] q dem Querschnitt des Diffusionsweges, t der Zeit und dem Konzentrationsgefälle $\frac{dc}{dx}$, d. h. dem Konzentrationsunterschied auf einer kleinen Strecke, wo auf dem Diffusionsquerschnitt x die Konzentration c, auf dem Querschnitt $x + dx$ die Konzentration $c + dc$ ist.

In unserem Falle ist S, k und q konstant. Die Größe des Konzentrationsgefälles wird durch die Konzentration des Farb-

[1] A. Fick, Pogg., Ann. d. Phys. u. Chemie, Bd. 94 (1855), p. 59.

[2] W. Nernst, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 2 (1888), p. 612. Sv. Arrhenius, ebenda, Bd. 10 (1892), p. 51.

stoffes im Außenmedium bestimmt und bleibt innerhalb eines Versuches konstant, weil der eingedrungene Farbstoff sofort in osmotisch unwirksamer Form gebunden wird und andrerseits ist die Abnahme der Farbstoffkonzentration außerhalb der Zelle so minimal klein, daß sie vernachlässigt werden kann; infolge dessen ist *S*, die aufgenommene Farbstoffmenge, gleich

Fig. 1.

Abszisse ist die Konzentration des Methylvioletts in Prozenten.
Ordinate ist die Aufnahmszeit in Minuten.
Kurve I ohne $Ca(NO_3)_2$-Zusatz (siehe Tabelle I).
Kurve II mit $Ca(NO_3)_2$-Zusatz (siehe Tabelle VII).

$c.t$, wo c die Konzentration des Farbstoffes im Außenmedium, t die Zeit in Minuten bedeutet.

Die Diffusionsgeschwindigkeitskurve (Fig. 1) stellt eine gleichseitige Hyperbel dar, deren Assymptoten mit den Koordinatenachsen zusammenfallen, und zwar ist die Abszisse die Konzentration des Farbstoffes, die Ordinate die Zeit in Minuten.

Bei Farbstoffen, wo eine Adsorption des Farbstoffes in der Zellulosemembran stattfindet, gestaltet sich die Aufnahms-

geschwindigkeitskurve anders als bei solchen, wo keine Adsorption vorliegt. Beseitigt man aber die Membranadsorption, so bekommt man der Diffusionsgleichung entsprechende Werte. Solche Versuche habe ich mit Neutralrothydrochlorid bei *Lemna minor* durchgeführt.

Die *Lemna* wurde auf folgende Weise zu den Versuchen vorbereitet. Die Wurzeln habe ich abgeschnitten, die entwurzelten *Lemna*-Exemplare wurden in eine Glaswanne gelegt, wo sich mit Regenwasser überschüttete Gartenerde befand. Die Kalyptrazellen der regenerierten jungen Wurzeln wurden dann zu den Versuchen verwendet. Die Zellen wurden nach dem Versuche immer mit einer stark hypertonischen $Ca(NO_3)_2$-Lösung plasmolysiert.

In Tabelle II sind die Werte angegeben für den Fall, bei dem eine Adsorption des salzsauren Neutralrotes stattfindet. In Tabelle III ist die Speicherung durch Zusatz von OH-Ionen vermieden (Ruhland).

Tabelle II (Fig. 2, Kurve II).

Versuchsobjekt: *Lemna minor* (befand sich vor dem Versuch eine Stunde lang in destilliertem Wasser).

Diffundierende Flüssigkeit: Neutralrothydrochlorid

Temperatur: 19° C.

Nummer	Konzentration des Neutralrothydrochlorids in Prozenten *(c)*	I	II	III	IV *(t)*	*c. t*
1	0·0002	5^m 0^s	7^m 0^s	10^m 0^s	12^m 0^s	0·0024
2	0·001	—	1 30	2 30	3 0	0·003
3	0·002	—	0 30	1 20	1 45	0·0035

Die in Kolonne IV angegebenen Versuchsdaten sind als Mittelwert von mindestens 10 Versuchen gewonnen.

Wenn eine Speicherung des Farbstoffes in der Zellulosemembran vorhanden ist, so gibt das Produkt Konzentration—Zeit *(c.t)* keinen konstanten Wert, vielmehr nimmt derselbe mit steigender Konzentration des Farbstoffes zu.

→ *Zeit in Minuten.*

→ *Konzentration des Neutralrots in Prozenten.*

Fig. 2.

Kurve I (siehe Tabelle III),
Kurve II (siehe Tabelle II),
Kurve III (siehe Tabelle XI).

Tabelle III (Fig. 2, Kurve I).

Versuchsobjekt: *Lemna minor* (befand sich vor dem Versuch eine Stunde lang in destilliertem H_2O.

Diffundierende Flüssigkeit: Neutralrothydrochlorid + NaOH.

Endgültige Konzentration des zugesetzten NaOH = 0·005-normal.

Temperatur: 19° C.

Das Produkt liefert annähernd konstante (unregelmäßig veränderte) Werte, was auch aus den großen Versuchsfehlern bei so kleinen Aufnahmszeiten und aus der Trübung der Farbstofflösung bei Versuch 3 infolge der Bildung der schwerlöslichen Neutralrotbase verständlich ist.

Nummer	Konzentration des Neutralrots in Proz., aufgelöst in einer 0·005 norm. NaOH-Lösung	I	II	III	IV	c.t
1	0·0002	—	1^m 30^s	3^m 0^s	4^m 0^s	0·0008
2	0·001	—	—	0 30	0 45	0·00075
3	0·002	—	—	—	0 30	0·0010

Genauere Versuche bei kleinen Aufnahmszeiten kann man mit *Spirogyra* durchführen, wo es sich ebenfalls ergab, daß das Diffusionsgesetz nach der Beseitigung der Speicherung in der Zellulosemembran gültig ist.

Tabelle IV.

Versuchsobjekt: *Spirogyra* (Kultur *B*).

Dieselbe befand sich vor dem Versuch 15 Minuten in destilliertem Wasser.

Diffundierende Flüssigkeit: Neutralrothydrochlorid + NaOH.

Endgültige Konzentration des zugesetzten NaOH = 0·002-normal.

Temperatur: 21° C.

Konzentration des Neutralrots in Prozenten, aufgelöst in einer 0·002 norm. Na OH-Lösung	I	II	III	IV		Mittelwert	c.t
0·0001	2m 0s	3m 0s	4m 0s	4m 30s	5m 0s	4m 45s	0·000475
0·0002	—	1 0	1 30	2 30	2 0	2 15	0·000450
0·001	—	0 15	0 20	0 30	0 30	0 30	0·000500

Wie wir aus den in Tabelle II und III gegebenen Versuchsdaten ersehen, wirkt die Adsorption durch die Zellulosemembran verzögernd auf die Diffusion des Farbstoffes, wie das auch schon Pfeffer[1] und Ruhland[2] beobachtet hat.

Konzentration des Neutralrots in Prozenten	Aufnahmszeit ohne Na OH-Zusatz	Aufnahmszeit bei Na OH-Zusatz	Differenz
0·0002	12m 0s	4m 0s	8m 0s
0·001	3 0	0 45	2 15
0·002	1 45	0 30	1 15

Jedenfalls geben diese Zahlen nicht die absolute Größe der Hemmung durch Adsorption in der Zellulosemembran an, und zwar darum nicht, weil bei Gegenwart von OH-Ionen die Plasmahaut für basische Farbstoffe mehr permeabel ist wie im normalen Zustand. Diesbezügliche Versuche werden in einer demnächst zu veröffentlichenden Arbeit ausführlich behandelt werden.

Hier sei bemerkt, daß die in Tabelle II und III gegebenen Versuchsresultate in Widerspruch sind mit ähnlichen Versuchen von Ruhland.[3] Der genannte Forscher fand, daß kein Unterschied im Eindringen der Neutralrotbase und des salzsauren Salzes bestehe, und doch gibt er merkwürdigerweise eine wenn

[1] Pfeffer, Unters. aus dem bot. Inst. zu Tübingen. Bd. II (1886), p. 179.

[2] Ruhland, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 46 (1908), p. 1; derselbe, Ber. d. deutschen bot. Ges., Bd. 26 (1909), p. 772.

[3] Ruhland, l. c.

auch nur teilweise zutreffende Erklärung über die Ursachen der von mir beobachteten Unterschiede in der Aufnahmsgeschwindigkeit der obgenannten zwei Stoffe. Die Versuchsanordnung bei Ruhland war eine andere wie die obige. Ich habe die Versuche nach dem der Ruhland'schen wiederholt, aber ich fand stets einen unverkennbaren Unterschied im Eindringen der zwei Stoffe.

Nach den Versuchen von Rohde,[1] Krafft[2] und L. Michaelis[3] ist bekannt, daß das Methylviolett ein Emulsionskolloid ist. Nach den bisherigen kolloidchemischen Versuchen war es noch zweifelhaft, ob die Kolloide das Elementargesetz der Diffussion befolgen (innerhalb bestimmter Grenzen). Die Versuche von Duclaux[4] zeigten, daß der osmotische Druck von Kupferferrocyanid, Eisenhydroxid und Thorhydrat nicht proportional mit der Konzentration steigt. Wenn keine Versuchsfehler[5] bei diesen Versuchen vorliegen würden, dann wären sie ein Beweis dafür, daß die Kolloide dem van 't Hoff'schen Gesetz nicht folgen; und wenn das van 't Hoff'sche Gesetz bei den Kolloiden keine Gültigkeit hätte, so würde daraus selbstverständlich folgen, daß das Fick'sche Gesetz der Diffusion für sie nicht gelten kann. Hingegen zeigte W. M. Bayliss in jüngster Zeit in einer ausgezeichneten Arbeit, daß der osmotische Druck des kolloidalen Kongorots innerhalb der untersuchten Konzentrationen (0·07 bis 1 %) proportional mit der Konzentration steigt; somit wurde auch wahrscheinlich gemacht, daß auch die Kolloide bei ihrer Diffusion die Gesetze der nichtkolloidalen Lösungen befolgen können. Unsere Versuche stehen also in keinem Widerspruch mit den Erfahrungen der Kolloidchemie.

---

[1] Rohde, l. c., p. 938.

[2] Krafft, Berl. Ber., Bd. 32 (1899), p. 1611.

[3] L. Michaelis, Virch. Arch. f. Anat. u. Physiol., Bd. 179 (1905), p. 195; siehe auch Freundlich und Neumann, Koll.-Zeitschr., Bd. 3 (1908), p. 80.

[4] Die Zusammenfassung der Arbeiten von Duclaux über den osmotischen Druck kolloidaler Lösungen, Koll.-Zeitschr., Bd. 3 (1908), p. 126.

[5] Einwände siehe auch bei Lottermoser, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 60 (1907), p. 458 und in den dort zitierten Arbeiten.

[6] W. M. Bayliss, l. c.

III. Über die Hemmung der Aufnahme basischer Farbstoffe bei Gegenwart von Elektrolyten.

Die bisherigen Theorien über die chemische Beschaffenheit der Plasmahaut sind auf deren physikalische Eigenschaften gegründet. Es ist eine ebenso naheliegende und dankbare Aufgabe, die chemischen Änderungen der Plasmahaut, die sie unter Einwirkung verschiedener Agenzien erleidet, zu untersuchen. Die chemischen, beziehungsweise physikalischen Änderungen in der Plasmahaut kann man mit der Prüfung der Permeabilitätsänderung derselben kontrollieren. In den folgenden zu diesem Zwecke angestellten Versuchen wird der Einfluß von Elektrolyten auf die Aufnahmsgeschwindigkeit von basischen Farbstofflösungen untersucht. (Siehe die Tabelle der orientierenden Untersuchungen auf p. 754.)

Die Wirkung der untersuchten Elektrolyte ist nur grob vergleichbar. Wie wir sehen, steigt die verzögernde Wirkung der Elektrolyte auf die Aufnahmsgeschwindigkeit der Farbstofflösungen stark mit der Wertigkeit des Kations.

Dasselbe Verhalten der Elektrolyte finden wir wieder bei der Hemmung der Aufnahme von $FeSO_4$ bei Gegenwart von Elektrolyten. Bekanntlich ist das Eindringen des $FeSO_4$ in die *Spirogyra*-Zelle an der Bildung der blauen Gerbsäureeisenverbindung erkennbar. Benecke[1] beobachtete, daß bei Zusatz eines Ca-Salzes die blaue Färbung später eintritt als bei Abwesenheit desselben. Es ist mir gelungen, die Benecke'schen Versuche nicht nur zu bestätigen, sondern ich fand auch, daß Elektrolyte mit anderen Kationen wie Ca qualitativ dieselbe hemmende Wirkung ausüben. Und zwar steigt die hemmende Wirkung stark mit der Wertigkeit des Kations. Einen zahlenmäßigen Ausdruck der Hemmungsgröße konnte ich nicht geben, weil die Zellen sehr große individuelle Schwankungen zeigten. Jedoch war der große quantitative Unterschied in der Hemmungsgröße von Kationen mit verschiedener Wertigkeit unverkennbar. Es sei bemerkt, daß bei diesen Versuchen keine Rede von einer Entgiftung sein kann, weil die *Spirogyra*-Zellen beim Eintreten der Gerbsäureeisenreaktion durchwegs schon tot waren.

---

[1] Benecke, Ber. d. deutschen bot. Ges., Bd. 25 (1907), Heft 6.

Orientierende Untersuchungen.

Versuchsobjekt: *Spirogyra* (Kultur *C*). Temperatur 17 bis 20° C.

Konzentration des Methylvioletts = 0·00012%													
Elekrolyt →	$NaNO_3$					KNO_3				$NaCl$			
Konzentration des Elektrolyten in normalen	0·0	0·0025	0·0125	0·0625	0·125	0·0025	0·0125	0·0625	0·125	0·0025	0·0125	0·0625	0·125
I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II	$10^m\ 0^s$	$10^m\ 0^s$	$12^m\ 0^s$	$12^m\ 0^s$	$13^m\ 0^s$	$10^m\ 0^s$	$10^m\ 0^s$	$15^m\ 0^s$	$15^m\ 0^s$	$10^m\ 0^s$	$10^m\ 0^s$	$15^m\ 0^s$	$15^m\ 0^s$
III	15 0	15 0	26 0	26 0	30 0	15 0	20 0	25 0	25 0	20 0	25 0	25 0	25 0
IV	**24 0**	**27 0**	**30 0**	**29 0**	**32 0**	**26 0**	**28 0**	**30 0**	**30 0**	**26 0**	**29 0**	**30 0**	**30 0?**
Elektrolyt →	$Ca(NO_3)_2$					$Mg(NO_3)_2$							
I	—	—	$35^m\ 0^s$	$80^m\ 0^s$	$100^m\ 0^s$	$15^m\ 0^s$	$25^m\ 0^s$	$80^m\ 0^s$	$115^m\ 0^s$				
II	$10^m\ 0^s$	$25^m\ 0^s$	75 0	105 0	—	—	46 0	115 0	160 0				
III	15 0	35 0	155 0	250 0	300 0	32 0	90 0	†	†				
IV	**23 0**	**45 0**	[1] †	†	†	**40 0**	†	†	†				
Elektrolyt →	$AlCl_3$					$FeCl_3$							
I	—	$160^m\ 0^s$	$170^m\ 0^s$	$170^m\ 0^s$	$170^m\ 0^s$	$220^m\ 0^s$	$220^m\ 0^s$	$180^m\ 0^s$	$110^m\ 0^s$				
II	$10^m\ 0^s$	†	†	†	†	†	†	†	†				
III	15 0	†	†	†	†	†	†	†	†				
IV	25 0	†	†	†	†	†	†	†	†				

[1] † bedeutet, daß die Zellen früher abgestorben sind, bevor sie sich färbten.

Die hemmende Wirkung der Elektrolyte auf die Aufnahmsgeschwindigkeit von Farbstofflösungen kann ihren Hauptangriffspunkt entweder in dem Farbstoff oder im Plasma haben. Das basische Methylviolett ist positiv elektrisch geladen; bei den positiv geladenen Kolloiden tritt die Wirkung des Kations stark in den Hintergrund gegenüber der des Anions; also ist es nicht wahrscheinlich, daß die Hauptwirkung auf den Farbstoff gerichtet ist. Die Fällungskonzentration bei der Fällung des Methylvioletts ist für KNO_3, $Ca(NO_3)_2$ und $Al(NO_3)_3$ annähernd dieselbe; damit muß aber auch die assoziierende Wirkung derselben Stoffe auf das Methylviolett annähernd die gleiche sein. Wenn die assoziierende Wirkung der genannten drei Stoffe dieselbe ist, so müssen sie einen gleichen Abfall der Molekülkonzentration der Farbstofflösung bewirken. Da die Geschwindigkeit der Diffusion der Größe des Konzentrationsgefälles des diffundierenden Stoffes proportional ist und das Konzentrationsgefälle von dem Unterschied der Molekülzahl auf dem Diffusionsweg abhängig ist, so bewirkt eine Assoziation eine Verminderung der Molekülzahl, d. h. das Konzentrationsgefälle in der Richtung zur Zelle wird kleiner, die Diffusionsgeschwindigkeit nimmt ab, also die Ursache der Hemmung bei der Aufnahme des Methylvioletts durch die lebende Zelle kann nicht auf die Bildung von Molekülaggregaten, d. h. auf den Abfall der Molekülkonzentration der Farbstofflösung zurückgeführt werden.

Daß der Hauptangriffspunkt des Elektrolyten im Protoplasma liegt, ergibt sich noch klarer aus dem folgenden Versuche.

Gibt man die durch öfteres Zentrifugieren mit destilliertem Wasser ausgewaschene gewöhnliche Preßhefe in eine Neutralrotlösung (0·005 %), so färben sich schon die meisten Zellen in einigen Minuten, andere aber selbst auch nach einer längeren Zeit nicht. Wird in einem Parallelversuch der Neutralrotlösung von gleicher Konzentration eine $AlCl_3$-Lösung hinzugefügt, deren Konzentration in der Mischung 0·1 normal beträgt, so tritt eine Färbung selbst in 2 Tagen erst in vereinzelten Zellen auf. Ob die Zellen nach diesen Versuchen lebten oder nicht, wurde nicht untersucht und es war dies auch für meinen Zweck in diesem Falle ganz gleichgültig.

Wenn wir z. B. annehmen, daß das Neutralrot (0·005%) ohne $AlCl_3$-Zusatz in 10 Minuten in die Hefezelle eingedrungen ist (tatsächlich aber schon früher), bei $AlCl_3$-Zusatz aber erst in zirka 48 Stunden (tatsächlich noch später), so kann man unter der Voraussetzung, daß nur eine osmotische Wirkung des $AlCl_3$ auf das Neutralrot vorliegt, aus den Veränderungen des Diffusionskoeffizienten auf die Veränderungen des Molekulargewichtes Schlüsse ziehen.

Es ist eine empirische Formel angegeben worden für den Zusammenhang zwischen Molekulargewicht und Diffusionskoeffizienten: [1]

$$M = \frac{59 \cdot 2}{k^2}, \qquad (1)$$

wo M das Molekulargewicht, k den Diffusionskoeffizienten des diffundierenden Stoffes bedeutet. Nehmen wir an, daß das Molekulargewicht von Neutralrot seiner einfachen Formel entspricht (wenn es auch vielleicht nicht zutrifft, was nur zugunsten unserer Überlegungen sprechen würde) und gleich ist 302·5, dann ist

$$k^2 = \frac{59 \cdot 2}{302 \cdot 5} = 0 \cdot 195.$$

Den Diffusionskoeffizienten, dessen Diffusionsmedium das Plasma ist, wollen wir als »Plasmadiffusionskoeffizienten« bezeichnen. Wir können den absoluten Wert des Plasmadiffusionskoeffizienten nicht angeben; dagegen sind wir in der Lage, aus den Verschiedenheiten in den Aufnahmszeiten bei und ohne $AlCl_3$-Zusatz auf die Veränderung des Plasmadiffusionskoeffizienten Schlüsse zu ziehen. Aus der Veränderung des Diffusionskoeffizienten können wir die Größe des Molekulargewichtes von Neutralrot bei $AlCl_3$-Zusatz berechnen.

Berechnen wir die ins Protoplasma diffundierte Farbstoffmenge als 1, so ist, da

$$S = x.c.t:$$
$$1 = x.0 \cdot 005.10$$
$$x = 20,$$

[1] R. Herzog, Koll.-Zeitschr., Bd. III, p. 83.

wo x einen Wert angibt, aus dessen Veränderung bei $AlCl_3$-Zusatz (x_{al}) wir die Veränderung des eigentlichen Diffusionskoeffizienten des Neutralrots berechnen können.

$$1 = x_{al} . 0 \cdot 005 . 2880$$
$$x_{al} = 0 \cdot 069$$
$$x : x_{al} = k : k_{al},$$

wo k_{al} den Diffusionskoeffizienten von Neutralrot bei $AlCl_3$-Zusatz bedeutet.

Aus dem Wert k_{al} können wir nach der Gleichung (1) das »Molekulargewicht« von Neutralrot bei $AlCl_3$-Zusatz berechnen.

$$M_{al} = \frac{59 \cdot 2}{0 \cdot 000002152} = 23,566.878,$$

wo M_{al} das Molekulargewicht des Neutralrots bei $AlCl_3$-Zusatz bedeutet.

Allerdings treffen diese Überlegungen nur dann zu, wenn 1. die Ursache der Diffusionshemmung nur eine Wirkung auf den Farbstoff und nicht auf das Plasma wäre; 2. wenn das Verhältnis zwischen eigentlichen und Plasmadiffusionskoeffizienten mit und ohne $AlCl_3$-Zusatz unverändert bleibt. Dieser letztere Fall ist keineswegs zutreffend, aber die Abweichung davon kann bei unserer groben Berechnungsart vernachlässigt werden. Jedoch bekommen wir für das »Molekulargewicht« von Neutralrot bei $AlCl_3$-Zusatz einen so horrenden Wert, daß er den Tatsachen bei weitem nicht entsprechen kann; infolgedessen muß die Hauptwirkung bei der Diffusionshemmung auf das Protoplasma und nicht auf den Farbstoff gerichtet sein.

Diese anscheinend etwas ausholenden Bemerkungen waren nötig, um die Entscheidung zu treffen, ob die Wirkung der Elektrolyte auf den Farbstoff oder auf das Plasma erfolgt. Der einfachste Weg, d. h. die Zelle zuerst in die Elektrolytlösung und dann gut ausgewaschen in die Farbstofflösung zu übertragen, konnte aus folgendem Grunde nicht eingehalten werden. Wenn man die Zellen nach Herausheben aus der Elektrolytlösung lange mit destilliertem Wasser wäscht, wird die Reaktion

zwischen Protoplasma und Elektrolyt rückgängig gemacht; und wenn auch das Plasma seinen ursprünglichen Zustand noch nicht erreicht hat, d. h. eine Hemmung des Farbstoffeintrittes noch vorhanden ist, so kann man dem Einwand nicht ausweichen, daß noch Elektrolytspuren in der Zellulosemembran der Zelle vorhanden sein könnten, die ihre etwaige Wirkung auf den Farbstoff ausüben.

Man wird nicht fehlgehen, wenn man die die Farbstoffaufnahme hemmende Wirkung der Elektrolyte (nur diese Wirkung!) teilweise schon in die Oberfläche des Protoplasmas, in die sogenannte Plasmahaut verlegt, und zwar aus dem Grunde, weil, wie wir es bei der Hefe gesehen haben, auch nach längerer Zeit nicht eine Spur des Farbstoffes durch die Oberfläche der Zelle tritt.

Die quantitative Untersuchung ergab, daß die die Farbstoffaufnahme hemmende Wirkung der Elektrolyte von zwei Faktoren abhängig ist, und zwar von der Konzentration des Farbstoffes und der des zugesetzten Elektrolyten.

Folgende Tabelle zeigt den Einfluß der verschiedenen Farbstoffkonzentration bei demselben Elektrolytzusatz auf die Aufnahmsgeschwindigkeit basischer Farbstoffe.

Tabelle VII (Fig. 1, Kurve II).

Versuchsobjekt: *Spirogyra* (Kultur *A*).

Diffundierende Flüssigkeit: Methylviolett von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0 · 1 normalen $Ca(NO_3)_2$-Lösung.

Temperatur: 19 bis 20° C.

Die Versuchsdaten sind mit der in Tabelle I angegebenen in jeder Hinsicht vergleichbar.

Konzentration des Methylvioletts in Prozenten, aufgelöst in einer 0·1 norm. $Ca(NO_3)_2$ (*c*)	I	II	III	IV			Mittelwert (*t*)	*c.t*
0·000125	$10^m 0^s$	20^m 0^s	26^m 0^s	30^m 0^s	$30^m 0$?	—	30^m 0^s	0·00375
0·000250	—	10 0	14 0	18 0	17 0	$17^m 30^s$	17 30	0·0043750
0·000375	—	5 0	7 0	10 0	11 0	—	10 30	0·0039375
0·000500	2 0	4 0	6 0	7 10	8 0	—	7 35	0·00379
0·000750	1 0	2 30	5 0	6 0	6 0	6 0	6 0	0·00450
0·00125	1 0	2 0	3 0	4 0	4 0	—	4 0	0·00500
0·00250	1 0	2 0	2 30	3 0	3 0	—	3 0	0·00750

Wie wir sehen, bekommen wir, wenn die endgültige Konzentration des zugesetzten Elektrolyten immer dieselbe ist und die Konzentration des Farbstoffes variiert, der Diffusionsgleichung annähernd entsprechende Werte. Das Produkt, gebildet aus Zeit und Farbstoffkonzentration, steigt etwas mit zunehmender Konzentration des Farbstoffes. Bei einer Methylviolettkonzentration, die unter 0·000125% lag, bekam ich unsichere Werte, welche aber immer kleiner waren als die Aufnahmszeit, die aus der Diffusionsgleichung bei einer solchen Farbstoffkonzentration berechnet werden kann. Es ist auch möglich, daß das Produkt Farbstoffkonzentration mal Zeit ohne Elektrolytzusatz auch nicht ganz konstant ist, sondern mit zunehmender Konzentration des Farbstoffes etwas steigt. Dies konnte ich aber nicht beobachten, weil die Versuchszeiten zu klein waren und die individuellen Schwankungen der Zellen, die etwaige schwache Steigerung des Produktes mit zunehmender Konzentration des Farbstoffes verbergen. Mit verdünnteren Lösungen, d. h. bei größerer Versuchsdauer, konnte ich darum nicht arbeiten, weil die Zellen aus unbekannten Gründen verschieden reagierten.

Da die hemmende Wirkung der Elektrolyte keinen bedeutenden Einfluß auf die Gestaltung der Diffusionsgleichung hat, so muß die Wirkung der Elektrolyte auf einer solchen Funktion beruhen, die praktisch momentan abläuft und die durch die verursachte Änderung des Plasmas auf den relativen Ablauf der Diffusionsprozesse keinen Einfluß hat.

Wenn die Konzentration des Farbstoffes konstant ist und die zugesetzte Menge des Elektrolyten sich ändert, so findet man, daß ein kleiner Elektrolytzusatz einen verhältnismäßig größeren hemmenden Einfluß hat, als der Zusatz von größeren Mengen. Die hemmende Wirkung als Ordinate, die zugesetzte Elektrolytmenge als Abszisse aufgetragen, ergibt eine Kurve, deren Abszisse und Ordinate logarithmiert annähernd eine gerade Linie ergeben. Bei KNO_3-Zusatz ist die logarithmierte Kurve fast ganz gerade, bei $Ca(NO_3)_{32}$ und $Al(NO_3)_3$-Zusatz, also mit zunehmender Wertigkeit des Kations, gewinnt sie an Konkavität zur x-Achse.

Wir sind in der Lage, infolge der Gültigkeit des Diffusionsgesetzes die Versuchszeiten für unsere Versuche willkürlich zu wählen. Ich habe die Farbstoffkonzentration immer so gewählt, daß die Aufnahmszeit möglichst klein war, so daß die sekundäre Giftwirkung der Elektrolyte nicht zur Geltung kam und ferner zeigt auch die Erfahrung, daß bei kleinen Versuchszeiten, d. h. bei großen Farbstoffkonzentrationen, die individuellen Schwankungen scheinbar kleiner sind.

Tabellen VIII, IX, X.

Versuchsobjekt (bei allen drei folgenden Versuchen): Eine dünnfädige und dünnwandige *Spirogyra*-Art (Kultur *C*).

Diffundierende Flüssigkeit in Tabelle VIII KNO_3 von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·0001 prozentigen Methylviolettlösung; in Tabelle IX $Ca(NO_3)$; in Tabelle X $Al(NO_3)$ von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·0003 prozentigen Methylviolettlösung.

Temperatur: 20° C.

Nach dem Versuch wurden die Zellen nur in eine hypotonische $Ca(NO_3)_2$-Lösung übertragen, und zwar darum, weil

sie sich bei der Plasmolyse verschieden stark kontrahieren, je nach der Vorbehandlung mit KNO_3, $Ca(NO_3)_2$ oder $Al(NO_3)_3$.

Tabelle VIII (Fig. 3, Kurve I).

KNO_3 von verschiedener Konzentration, (in norm.), aufgelöst in einer 0·0001 prozentigen Methylviolettlösung	I	II	III	IV		Mittelwert
0	0m 30s	1m 0s	1m 30s	2m 0s	2m 0s	2m 0s
0·001	—	1 30	2 30	3 0	3 0	3 0
0·01	—	2 30	4 0	4 30	5 30	5 0
0·08	2 0	4 30	6 30	8 0	8 30	8 15

Tabelle IX (Fig. 3, Kurve II).

$Ca(NO_3)_2$ von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·0003 prozentigen Methylviolettlösung	I	II	III	IV		Mittelwert
0	0m 15s	0m 30s	0m 40s	0m 50s	0m 50s	0m 50s
0·001	0 30	1 20	1 45	2 0	2 30	2 15
0·01	1 0	3 0	5 0	6 0	7 0	6 30
0·04	3 0	5 0	7 0	8 0	9 0	8 30
0·09	—	5 0	8 0	9 0	9 0	9 0

Tabelle X (Fig. 3, Kurve III).

$Al(NO_3)_3$ von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·0003 prozentigen Methylviolettlösung	I	II	III	IV		Mittelwert
0	0m 15s	0m 30s	0m 40s	0m 50s	0m 50s	0m 50s
0·0005	3 0	5 0	7 0	8 0	8 0	8 0
0·0025	4 0	6 0	10 0	13 0	12 0	12 30
0·01	4 0	6 0	15 0	{17 0 {21 0	20 0	19 0?

Die gegebenen Versuchsdaten entsprechen bei KNO_3-Zusatz mehr, bei $Ca(NO_3)_2$ und $Al(NO_3)_2$-Zusatz weniger der Exponentialgleichung der Adsorption [1]

$$\frac{x}{m} = \alpha . c^{\frac{1}{n}},$$

Fig. 3.

Konzentration des Methylvioletts ist konstant.[2]

Abszisse ist bei Kurve I die Konzentration des zugesetzten KNO_3 in norm. (siehe Tabelle VIII).

Abszisse ist bei Kurve II die Konzentration des zugesetzten $Ca(NO_3)_2$ in norm. (siehe Tabelle IX),

Abszisse ist bei Kurve III die Konzentration des zugesetzten $Al(NO_3)_3$ in norm. (siehe Tabelle X).

Ordinate ist die Aufnahmszeit in Minuten.

wobei x die adsorbierte Menge, m die Menge des Adsorbens, c die Konzentration des adsorbierenden Stoffes nach vollendeter Adsorption bedeutet; α und $\frac{1}{n}$ sind Konstanten.

Die obigen Versuche zwingen uns zur Annahme, daß die Hemmung der Farbstoffaufnahme parallel geht mit der Ad-

[1] Freundlich, Kapillarchemie, Leipzig 1909, p. 149; siehe auch dort die diesbezügliche Literatur.

[2] Aus Tabelle IX (Kurve II) und Tabelle X (Kurve III) ist die Methylviolettaufnahme auf einer Konzentration von 0·0001% umgerechnet.

sorption der Elekrolyte[1] durch das Plasma wenigstens bis zu jenem Punkte, wo die logarithmierte Adsorptionskurve eine Konkavität zur x-Achse noch nicht aufweist, d. h. einem maximalen Punkt noch nicht zustrebt. Es ist jedenfalls eine auffällige Tatsache, daß die Hemmung des Farbstoffeintrittes der Maßstab für die Größe der Adsorption des Elektrolyten durch das Plasma ist.

Zwischen den obigen Versuchen und vielen anderen kolloidchemischen Untersuchungen sind Analogien vorhanden, aber das beweist noch nicht, daß wir es hier nicht mit einer nur formell identischen Erscheinung zu tun haben.

Die Untersuchungen von L. Pelet und L. Grand[2] über die Beeinflußbarkeit der Färbung an der Faser bei Gegenwart von Elektrolyten besitzt manche Analogien mit dem oben beschriebenen Vorgang. Gibt man z. B. zur negativ geladenen Wolle im Färbebade neben positiv geladenem Methylenblau anorganische Elektrolyte, deren Anionen mehrwertig, aber deren Kationen einwertig sind, so gewinnt die Färbung an Stärke mit zunehmender Wertigkeit des Anions infolge der aufladenden Wirkung desselben auf die Faser. Gibt man dagegen zur Methylenblaulösung im Färbebade ein mehrwertiges Kation mit einem einwertigen Anion, so nimmt die Färbung infolge der entladenden Wirkung des Kations auf die Faser stark mit zunehmender Wertigkeit desselben ab.

1. Na_2HPO_4 2. Na_2SO_4 3. Ohne Zusatz 4. $BaCl_2$ 5. $PtCl_4$

$\rightarrow$ $\rightarrow$ $\rightarrow$

Am dunkelsten, am hellsten gefärbt.

Wie wir sehen, nimmt die Färbungsintensität mit steigender Wertigkeit der Kationen ab, wie auch in unseren Versuchen bei der Färbung der *Spirogyra*. Trotzdem das Verhalten der Faser und der *Spirogyra* gegen dieselben Agenzien das gleiche ist, so hat es doch in beiden Fällen verschiedene Ursachen. Die

---

[1] Siehe auch Wo. Ostwald, Pflüg. Arch., Bd. 120 (1907), p. 19; Pflüg. Arch. Bd. 106 (1905), p. 568; derselbe, Koll.-Zeitschr., Bd. 6 (1910), Heft 4.

[2] L. Pelet und L. Grand, Koll.-Zeitschr., Bd. 2, p. 83 (1907); ferner Pelet, Theorie des Färbeprozesses, 1910, Dresden, p. 96.

Färbung der Wolle durch Methylenblau ist eine Adsorption. Die Farbstoffaufnahme der *Spirogyra* erfolgt nach den Gesetzen der Diffusion. Obwohl beide Erscheinungen miteinander verbunden sein können, sind jedoch für den Ablauf der Färbung an der Faser die Adsorption, für die Färbung der *Spirogyra* die Gesetze der Diffusion, d. h. der Diosmose, maßgebend. Die quantitative Untersuchung ergab auch, daß wir es hier nur mit scheinbar identischen Erscheinungen zu tun haben. Die Beeinflussung der Färbbarkeit der Faser bei Gegenwart von Elektrolyten zeigt eine andere Abhängigkeit von der Konzentration des Elektrolyten wie die Färbung der *Spirogyra*.

Die obigen Versuche mit *Spirogyra* finden ein völliges Analogon in den elektroendosmotischen Erscheinungen (unter Elektroendosmose versteht man die Verschiebung einer Flüssigkeit gegen eine feste Oberfläche im elektrischen Stromkreis).[1]

Es ist hauptsächlich nach den Untersuchungen von Perrin[2] bekannt, daß bei der Elektroendosmose durch Entladung des zwischen die beiden Pole geschalteten Diaphragmas die überführte Flüssigkeitsmenge verkleinert wird. Und zwar hat die Kurve, die die Verminderung der überführten Flüssigkeitsmenge als Ordinate, die Konzentration des entladenden Elektrolyten als Abszisse hat, einen am Anfang logarithmischen Verlauf; bei höherer Konzentration aber strebt die Kurve einem Maximum zu. Es ist auch durchaus möglich, daß bei unseren Versuchen die Konkavität der Kurven zur x-Achse als Zeichen einer Zustrebung zu einem maximalen Punkt betrachtet werden kann. Es wäre noch der Einwand möglich, daß die Konkavität der Kurven davon herrührt, daß ich bei meinen Versuchen, statt die Konzentration des Elektrolyts nach vollendeter Adsorption anzugeben, aus leicht verständlichen Gründen die Konzentration vor der Adsorption angegeben habe. Da aber die absolute Menge des zugesetzten Elektrolyten so groß (200 cm^3) und die adsorbierte Menge so klein war (die Adsorption durch ein paar *Spirogyra*-Fäden), konnte sie praktisch keinen Einfluß auf die Gestaltung der Kurven haben. Scheinbar wird das Zustreben

---

1 Freundlich, Kapillarchemie, p. 223.

2 Zitiert nach Freundlich's Kapillarchemie, p. 224.

nach einem maximalen Punkt nur nach einer bestimmten Konzentration des zugesetzten Elektrolyten sichtbar. Dieser Punkt wird bei stark entladenden Elementen, wie das die Konkavität der logarithmierten Ca- und Al-Adsorptionskurve zeigt, rascher erreicht. In unserem Falle entspricht dem negativen Pol bei der Elektroendosmose das Innere der Zelle, dem negativ geladenen Diaphragma die Hautschicht der Zelle. Daß wir die Zelle als negativ elektrisch geladen betrachten können, geht aus den Versuchen von Höber,[1] Bechhold[2] und Lilie[3] hervor. Die genannten Autoren fanden, daß die Zellen (Blutkörperchen, Bakterien, Hefezellen, Spermatozoen) bei ihrer kataphoretischen Wanderung anodische Konvektion zeigten. Die der Oberfläche der Zellen näherliegenden Teile kann man als Diaphragma betrachten, weil ihre Entladung schon viel früher als die im Innern der Zelle gelegenen Teile erfolgt. Wird die Hautschicht entladen, so vermindert sich die durchtretende Farbstoffmenge in der oben angedeuteten Weise. Daß Erscheinungen elektrischer Art hier eine große Rolle spielen, zeigt auch die von Höber betonte Tatsache, daß die meisten positiv elektrisch geladenen Farbstoffe vital färben, aber die negativ geladenen nicht. Overton[4] gab dieser Erscheinung im Sinne der Lipoidtheorie eine Deutung, jedoch konnte Ruhland[5] zeigen, daß die Lipoidlöslichkeit für die Aufnahme mancher Farbstoffe nicht entscheidend ist. Ich will damit nicht sagen, daß die elektrische Ladung allein maßgebend für die Aufnahme der Farbstoffe ist. Jedoch konnte es in dieser Abhandlung wahrscheinlich gemacht werden, daß der elektrischen Ladung eine große Bedeutung zuzuschreiben ist. Wird die Hautschicht entladen, so verzögert sich die Aufnahme basischer Farbstoffe.

---

[2] Höber, Pflügers Arch., Bd. 101 (1904), p. 607; derselbe, Bd. 102 (1904), p. 196; ferner Phys. Chem. der Zelle und Gewebe, p. 260.

[2] Bechhold, Zeitschr. für phys. Chemie, Bd. 48 (385), 1904.

[3] Lillic, American Journ. of physiol., Bd. 8, p. 273 (1903).

[4] Overton, l. c.

[5] Ruhland, l. c.

IV. Über die Hemmung der Aufnahme basischer Farbstoffe bei Gegenwart von sauren Farbstoffen.

Die Ursache der die Farbstoffaufnahme hemmenden Wirkung des Elektrolyten besteht in dem Einfluß derselben auf das Plasma. Prinzipiell verschieden davon ist die Hemmung der Aufnahme basischer Farbstoffe bei Gegenwart von sauren Farbstoffen. Die sauren Farbstoffe verbinden sich mit den basischen Farbstoffen unter Bildung von Salzen,[1] für die die Plasmahaut impermeabel ist. Da die Ursache der Hemmung hier eine andere ist als bei den Elektrolyten, so folgt daraus, daß hier andere Gesetzmäßigkeiten gelten werden wie dort. Der hemmende Einfluß, den der saure Farbstoff auf den basischen Farbstoff ausübt, hängt von der gegenseitigen Konzentration der beiden Farbstoffe ab. Ist der saure Farbstoff im Überschuß, so erfolgt nicht die Aufnahme des basischen Farbstoffes, ist dagegen der basische Farbstoff im Überschuß, so wird er mit einer Geschwindigkeit der dem freien basischen Farbstoff entsprechenden partiellen Konzentrationsgefälle aufgenommen.

Wenn die Konzentration des diffundierenden basischen Farbstoffes verschieden und die zugesetzte Elektrolytmenge dieselbe war, so fanden wir, daß die Hemmungskurve annähernd eine Hyperbel ergab, bei der das Produkt aus Abszisse und Ordinate mit zunehmender Konzentration des diffundierenden Farbstoffes etwas stieg; dagegen bei der Hemmung der Aufnahme bei Gegenwart eines sauren Farbstoffes von konstanter Konzentration nimmt die Größe des Produktes stark mit der Konzentration des diffundierenden basischen Farbstoffes ab, weil das partielle Konzentrationsgefälle des freien basischen Farbstoffes mit steigender Konzentration desselben stark zunimmt, d. h. die Aufnahmszeit wird kleiner.

---

[1] Über die Salzbildung zwischen sauren und basischen Farbstoffen. A. Seyewetz, Sur les combinaisons des matières colorantes acides avec les matières colorantes basiques. Thèse (Lyon 1900), zitiert nach Pelet, Theorie des Färbeprozesses, p. 42. Siehe auch die dort angegebene Literatur.

Tabelle XI (Fig. 2, Kurve III).

Versuchsobjekt und Versuchsbedingungen dieselben wie bei den Tabellen II und III.

Diffundierende Flüssigkeit: Neutralrot von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·001 prozentigen Kongorotlösung.[1]

Neutralrot von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·001 prozentigen Kongorotlösung *(c)*	I	II	III	IV *(t)*	*c.t*
0·0006	$2^h\ 0^m\ 0^s$	$3^h\ 0^m\ 0^s$	$5^h\ 30^m\ 0^s$	$6^h\ 0^m\ 0^s$	0·216
0·001	0 5 0	0 9 0	0 11 0	0 13 0	0·013
0·002	0 2 0	0 4 0	0 5 0	0 6 0	0·012

Wenn die Konzentration des basischen Farbstoffes konstant ist, die zugesetzte Menge des sauren Farbstoffes sich ändert, so bekommen wir, die Aufnahmszeit als Ordinate, die Konzentration des sauren Farbstoffes als Abszisse aufgetragen, nicht die charakteristische Adsorptionskurve wie im gegebenen Falle bei Elektrolytzusatz, sondern eine neue Kurve, die angibt, wie groß das Konzentrationsgefälle des ungebundenen basischen Farbstoffes ist, bei gegebener Konzentration des sauren Farbstoffes.

Tabelle XII.

Versuchsobjekt: *Spirogyra* (Kultur *D*).

Diffundierende Flüssigkeit: Kongorot von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·0002prozentigen Methylviolettlösung.

Temperatur: 20 bis 21° C.

---

[1] In höherer Konzentration hat das Kongorot einen hemmenden Einfluß auf die Fällung des Methylvioletts innerhalb der Zelle.

Kongorot von verschiedener Konzentration, aufgelöst in einer 0·0002 prozentigen Methylviolettlösung	I	II	III	IV
0	—	0m 30s	0m 50s	1m 0s
0·00004 (%)	1m 0s	1 30	2 30	3 0
0·00008	2 0	3 0	5 0	6 0?
0·0002	15 0	—	—	c. 30 0

Daß die hemmende Wirkung des sauren Farbstoffes ihren Angriffspunkt auf den basischen Farbstoff hat, ersieht man am besten aus folgendem Versuche. Ermittelt man die Konzentration des sauren Farbstoffes, die nötig ist, das Eindringen des basischen Farbstoffes, z. B. bis auf 10 Minuten, herauszuschieben, so findet man, daß mit steigender Konzentration des basischen Farbstoffes auch die zur Hemmung nötige Konzentration des sauren proportional steigt.

Tabelle XIII (Fig. 4).

Versuchsobjekt: *Spirogyra* (Kultur *D*).

Diffundierende Flüssigkeit: Methylviolett und Kongorot.

Temperatur: 21° C.

Konzentration des Methylvioletts in Prozenten	Die letzte experimentell bestimmte Konzentration des Kongorots, die noch nicht hinreicht, den Eintritt des Methylviolетts bis auf 10 Minuten herauszuschieben	Konzentration des Kongorots in Prozenten
0·00025	0·0001	0·00012
0·0005	0·00024	0·00028
0·001	0·00052	0·00056
0·002	0·00108	0·00112
0·004	0·00212	0·00224

Die hemmende Konzentration des sauren Farbstoffes steigt so streng proportional mit der Konzentration des basischen Farbstoffes, daß man diese einfache biologische Methode mit großer Leichtigkeit zur quantitativen Bestimmung mancher sauren und basischen Farbstoffe benützen könnte, wenn es sich herausstellen sollte, daß die hemmende Wirkung von störenden Faktoren nicht beeinflußt wird. Die Feinheit der Methode kann man dadurch noch steigern, daß man den hemmenden Einfluß des sauren Farbstoffes für eine längere Zeit als 10 Minuten ermittelt.

→ *Konzentration des Kongorots in Prozenten.*

0·00025 0·0005 0·001 0·002 0·004

→ *Konzentration des Methylvioletts in Prozenten.*

Fig. 4.

Da die hemmende Wirkung des sauren Farbstoffes auf der Entstehung einer neuen Verbindung beruht, so ist zu erwarten, daß das Verhältnis der molekularen Konzentration der zwei Farbstoffe eine einfache ganze Zahl ergibt, was ich aber leider nicht prüfen konnte, weil mein Methylviolettpräparat ein Gemisch und keine einheitliche Verbindung war. Es ist wahrscheinlich, daß das Methylviolett mit dem Kongorot in einem der folgenden Reaktion entsprechenden Verhältnis in Verbindung geht und die hemmende Molekularkonzentration des Kongorots zum Methylviolett sich wie 1 : 2 verhält.[1]

---

[1] Über das Verhalten der sulfosauren Gruppen saurer Farbstoffe siehe Vaubel und Bartlett, Zeitschr. für Farbenindustrie (1906), p. 24.

$$
\begin{array}{ll}
C_6H_4-N_2-C_{10}H_5\left\langle\begin{array}{l}SO_3\ \boxed{Na \quad\quad Cl} \\ NH_2\end{array}\right. & (CH_3)_2=N=C_6H_4=C=[(CH_3)_2NC_6H_4]_2 \\
\quad | & \quad + \\
C_6H_4-N_2-C_{10}H_5\left\langle\begin{array}{l}NH_2 \\ SO_3\ \boxed{Na \quad\quad Cl}\end{array}\right. & (CH_3)_2=N=C_6H_4=C=[(CH_3)_2NC_6H_4]_2
\end{array}
$$

Kongorot Hexamethylpararosanilin

Statt Methylviolett habe ich dessen Hauptbestandteil, das Hexamethylpararosanilin angegeben.

Die Reversibilität der Plasmahautbildung (Pfeffer[1]), die Koagulationstemperatur der äußersten Schicht des Plasmas (Lepeschkin[2]), zeigen, daß die Plasmahaut im Grunde wahrscheinlich nicht etwas vom inneren Plasma chemisch Differentes, sondern vielmehr nur etwas physikalisch und infolge der Ionenwirkungen nur teilweise chemisch Verändertes darstellt. Die bei der Plasmahautbildung in Betracht kommenden Stoffe sind wenigstens teilweise sicherlich Eiweißkörper.

Aus den obigen Ionenwirkungen auf die Hautschicht und aus der im allgemeinen alkalischen Reaktion des Plasmas kann man den Schluß ziehen, daß an dem Aufbau der Hautschicht negativ geladenes Alkalieiweiß beteiligt ist.

Zwischen den Untersuchungen von Pauli und Handovsky[3] am Alkalieiweiß und den obigen Versuchen bezüglich der Entladung der Hautschicht herrscht eine völlige Analogie. Die genannten Autoren konnten zeigen, daß bestimmte Elektrolytwirkungen auf das Alkalieiweiß auf der Vermehrung der elektroneutralen Eiweißteilchen beruhen. Bei unseren Versuchen ist der Maßstab für die Bildung elektrisch neutraler Teile die Abnahme der überführten Farbstoffmenge durch die

---

[1] Pfeffer, Plasmahaut u. Vacuolen, Abh. d. sächs. Ges. d. Wiss., Bd. 16 (1891), p. 193.

[2] Lepeschkin, Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. 28 (1910), p. 91.

[3] Pauli und Handovsky, Biochem. Zeitschr., Bd. 24 (1910), p. 239; ferner ebenda, Bd. 18 (1909), p. 340; Handovsky, ebenda, Bd. 25 (1910), p. 510.

Hautschicht. Die Bildung der elektrisch neutralen Teile bei Alkalieiweiß nimmt stark zu mit der Wertigkeit des Kations, ebenso wie bei unseren Versuchen die überführte Farbstoffmenge abnimmt. Die Abhängigkeit der Bildung von elektrisch neutralen Teilchen durch Elektrolytzusatz folgt dem Adsorptionsgesetz, d. h. Elektrolytzusatz von kleiner Konzentration verursacht verhältnismäßig eine größere Vermehrung der elektrisch neutralen Teilchen wie eine konzentriertere Elektrolytlösung. Dieselbe Abhängigkeit fanden wir auch bei den obigen Versuchen.

Die Versuche von Pauli und Handovsky eröffnen eine weite Perspektive für die Entgiftungserscheinungen[1] durch antagonistische Ionenwirkung, deren Mechanismus ein analoger ist wie die Hemmung der Aufnahme basischer Anilinfarben bei Gegenwart von Elektrolyten. Es wird daraus verständlich, warum eine kleine Menge eines mehrwertigen Kations genügt, um denselben Entgiftungseffekt hervorzurufen, wozu erst sehr große Mengen eines einwertigen Kations hinreichen können. Die obige Farbstoffmethode besitzt den großen Vorteil bei der Prüfung der Entgiftungserscheinungen, daß sie von den Partialfunktionen der Ionen abstrahieren kann, während bei den gewöhnlichen Entgiftungsversuchen, wo die antagonistische Wirkung in Form einer physiologischen Funktion geprüft wird, die störenden Partialfunktionen der entgiftenden Elemente sehr in Betracht kommen.

Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, meinen hochverehrten Lehrern Herrn Prof. Hans Molisch und Herrn Hofrat Prof. Julius v. Wiesner für die stete Förderung und Anregung der Arbeit meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen. Ferner bin ich Dank schuldig den Herren: Assistenten Dr. Oswald Richter für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, Prof. Pauli für das gütige Durchsehen meiner Arbeit, den Leitern der botanischen Abteilung an der biologischen Versuchsanstalt in Wien, Prof. Figdor und L. R. v. Portheim für das liebenswürdige Entgegenkommen.

---

[1] Siehe die Arbeiten von J. Loeb, Osterhout, O. Loew, Benecke, Portheim und Samec etc. und die dort angegebene Literatur.

Zusammenfassung.

1. Die Geschwindigkeit der Aufnahme mancher basischen Farbstoffe befolgt das Grundgesetz der Diffusion von Fick, d. h. die Aufnahmsgeschwindigkeit ist proportional dem Konzentrationsgefälle des diffundierenden Stoffes.

2. Es wird auf einem neuen Wege gezeigt, daß die Permeabilität der Plasmahaut nicht konstant ist.

3. Die Aufnahme der basischen Farbstoffe durch die lebende Zelle wird verzögert bei Gegenwart von bestimmten Elektrolyten.

4. Die hemmende Wirkung der Elektrolyte steigt stark mit zunehmender Wertigkeit des Kations.

5. Die Benecke'sche Beobachtung, daß Ca-Salze eine verzögernde Wirkung auf die Aufnahme von $FeSO_4$ ausüben, wurde bestätigt und auf andere Elektrolyte erweitert, die ebenfalls eine hemmende Wirkung auf die Aufnahme von $FeSO_4$ ausüben.

6. Die hemmende Wirkung der Elektrolyte steigt auch bei der Aufnahme von $FeSO_4$ mit zunehmender Wertigkeit des Kations.

7. Die Größe der die Farbstoffaufnahme hemmenden Wirkung der Elektrolyte hängt von ihrer Konzentration ab.

8. Verdünnte Elektrolytlösungen sind verhältnismäßig wirksamer als konzentriertere. Die Abhängigkeit der hemmenden Wirkung von der Konzentration der Elektrolyte entspricht annähernd bis zu einer bestimmten Konzentration der Exponentialgleichung der Adsorption

$$\frac{x}{m} = \alpha \, . \, C^{\frac{1}{n}},$$

nur ist statt $\frac{x}{m}$ die Hemmungszeit t einzusetzen.

9. Eine und dieselbe Menge der Elektrolyte bei verschiedener Konzentration des Farbstoffes verursacht eine je nach der Konzentration desselben verschiedene Hemmung, jedoch so, daß die Hemmungsgröße der Diffusionsgleichung entsprechende Werte ergibt.

10. Die Aufnahme basischer Farbstoffe durch die lebende Zelle wird bei Gegenwart mancher sauren Farbstoffe verzögert.

11. Die die Aufnahme hemmende Wirkung saurer Farbstoffe ergibt eine andere Gesetzmäßigkeit wie die Wirkung der Elektrolyte.

12. Die Wirkung der Elektrolyte hat ihren Hauptangriffspunkt im Plasma.

13. Die Wirkung saurer Farbstoffe beruht auf einer Salzbildung zwischen basischen und sauren Farbstoffen, für die die Plasmahaut impermeabel ist.

14. Es wurde eine biologische Methode angegeben zur quantitativen Bestimmung mancher basischen und sauren Farbstoffe.